

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : **06-049053**

(43)Date of publication of application : **22.02.1994**

(51)Int.Cl. C07D311/62
C07B 63/00

(21)Application number : **04-202708** (71)Applicant : **HOUJIYOU SEIANSHIYO:KK**

(22)Date of filing : **29.07.1992** (72)Inventor : **HORII SHOJI**

(54) PRODUCTION OF PROANTHOCYANIDIN

(57)Abstract:

PURPOSE: To recover proanthocyanidin at high rate and in high purity from a proanthocyanidin-contg. solution.

CONSTITUTION: A proanthocyanidin-contg. solution is adsorbed onto a polystyrene-based adsorptive resin, and the resulting resin is dried and then leached using a solvent of low polarity, thus recovering the objective proanthocyanidin.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 29.07.1992

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 2049657

[Date of registration] 10.05.1996

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right] 05.07.2001

THIS PAGE BLANK (USP 1C)

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

THIS PAGE BLANK (USPTO,

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平6-49053

(43) 公開日 平成6年(1994)2月22日

(51) Int. Cl.⁵

C 0 7 D 311/62

C 0 7 B 63/00

識別記号

庁内整理番号

7252-4C

F 7419-4II

F I

技術表示箇所

審査請求 有 請求項の数 4 (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願平4-202708

(22) 出願日 平成4年(1992)7月29日

(71) 出願人 592164203

株式会社北條製▲館▼所

大阪府枚方市長尾家具町3丁目1番13号

(72) 発明者 堀井 正二

京都府相楽郡精華町祝園門田3番地

(74) 代理人 弁理士 石井 曉夫 (外2名)

(54) 【発明の名称】 プロアントシアニジンの製造方法

(57) 【要約】

【目的】 プロアントシアニン含有溶液からプロアントシアニジンを、高い回収率で、且つ、高い純度で回収する。

【構成】 プロアントシアニン含有溶液をポリスチレン系の吸着樹脂に吸着し、次いで、この吸着樹脂を、
I. 乾燥したのち、極性の小さい極性溶媒を用いて溶出する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】プロアントシアニジン含有溶液をポリスチレン系の吸着樹脂に吸着し、次いで、この吸着樹脂を、一旦、乾燥したのち、極性の小さい極性溶媒を用いて溶出することを特徴とするプロアントシアニジンの製造方法。

【請求項2】プロアントシアニジン含有溶液をポリスチレン系の吸着樹脂に吸着し、次いで、この吸着樹脂を、洗浄したのち、一旦、乾燥し、次いで、極性の小さい極性溶媒を用いて溶出することを特徴とするプロアントシアニジンの製造方法。

【請求項3】前記吸着樹脂の乾燥を、80℃以下の温度で行うことを特徴とする「請求項1又は2」に記載したプロアントシアニジンの製造方法。

【請求項4】プロアントシアニジン含有溶液が、餡の製造工程から排出される豆類の浸漬水又は洗切り水、或いは豆類の煮汁であることを特徴とする「請求項1～3」に記載したプロアントシアニジンの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、食品の酸化防止、又は色素成分の退色防止、或いは生理活性物質として有効に使用されるプロアントシアニジンを製造する方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】先行技術としての特開昭63-162685号公報は、プロアントシアニジンを含む溶液からプロアントシアニジンを回収・製造する方法として、先づ、プロアントシアニジンの含む溶液をポリスチレン系の吸着樹脂に吸着し、次いで、この吸着樹脂を水等にて洗浄したのち、60℃以上の温度で水又はエタノール等の極性溶媒を用いて溶出させると言う方法を提案している。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】しかし、この先行技術によるプロアントシアニジンの製造方法は、溶液からのプロアントシアニジンの回収率を高い値に維持するために、60℃以上の温度で極性溶媒を用いて溶出させるもので、高い温度に厳格に温度管理しなければならないから、加熱装置と、その熱源とが必要であることに加え

て、低沸点極性溶媒における高い温度での取扱いを困難にすることにより、製造工程及び製造設備が複雑になって、製造コストの大幅なアップを招来すると言う問題がある。

【0004】しかも、前記先行技術の方法では、水等にて洗浄したあとの吸着樹脂を、湿潤した状態のまま、次の工程である60℃以上の温度で極性溶媒を用いた溶出に移行するものであって、酢酸エチル等のように、水に対して一定の割合でしか溶解することができない極性溶媒では、湿潤した状態の吸着樹脂との親和性が悪いから、プロアントシアニジンの収率が著しく低いと言う問題もあった。

【0005】また、前記先行技術の方法では、回収するプロアントシアニジンの純度を高めるために、吸着したあとの吸着樹脂を、水等によって洗浄することにより、前記吸着樹脂の表面等に付着されている不純物を除去するようにしているが、この洗浄が不完全であると、その後における溶出工程において、この不純物がプロアントシアニジンと一緒に極性溶媒に溶出して、回収したプロアントシアニジンの純度が低下することになる。

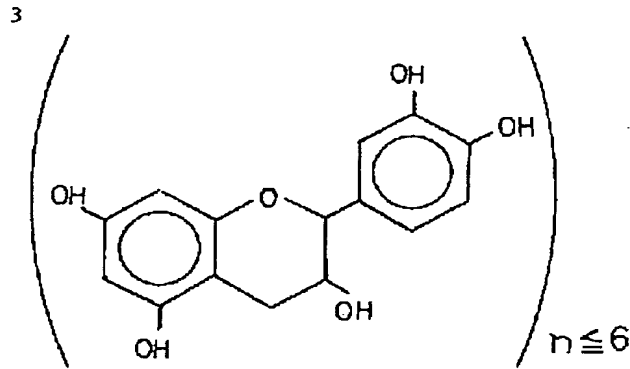
【0006】このために、前記水等による洗浄に充分な手間と時間とを掛けて完全に行うようにしなければならぬから、コストの大幅なアップを招来するのであった。本発明は、プロアントシアニジンを含む溶液からプロアントシアニジンを、高い回収率で、且つ、高い純度で回収・製造することを、低コストにて達成できる方法を提供するものであり、本発明者は、前記の目的を達成するために種々の実験と検討とを行った結果、本発明を完成するに至った。

【0007】

【課題を解決するための手段】すなわち、本発明は、プロアントシアニジン含有溶液をポリスチレン系の吸着樹脂に吸着し、次いで、この吸着樹脂を、一旦、乾燥したのち、極性の小さい極性溶媒を用いて溶出することにしたものである。なお、本発明におけるプロアントシアニジンは、自然界に存在する植物のほとんどに含まれており、構成単位として、フラバン-3-オールの重合度が2～6までの低重合体のものを言い。次の一般式、

【0008】

【化1】



【0009】で示されるものである。また、原料であるところのプロアントシアニジン含有溶液は、プロアントシアニジンを含むものであれば何でも良いが、例えば、餡の製造工程から排出される小豆等豆類の洗切り水、又は豆類の煮汁であると言うように、タンパク質等の不純物を含む溶液をも原料とすることができる。

【0010】更にまた、ポリスチレン系の吸着樹脂としては、例えば、三菱化成株式会社より商品名「セバビーズSP-850」として市販されているものを使用する。

【0011】

【作 用】前記プロアントシアニジン含有溶液を吸着した後において、吸着樹脂を、一旦、乾燥する。この吸着樹脂の乾燥は、当該吸着樹脂に吸着されているプロアントシアニジンの変質を回避するために約80℃以下の温度において行う。この吸着樹脂の乾燥により、以下において述べると共に、実施例に記載したように、プロアントシアニジンの回収率を、その後の溶出工程を高い温度にて行うことなく、高い値に維持することができる。

【0012】しかも、吸着樹脂を、吸着工程したあとにおいて、一旦、乾燥することにより、当該吸着樹脂に付着しているタンパク質等の不純物に変性を受けることにより、その後の溶出工程において、極性溶媒に対する前記不純物の溶解度が低くなるから、回収したプロアントシアニジンの純度が、その原料であるプロアントシアニジン含有溶液に含まれる不純物によって低下することを防止できるのであり、換言すると、プロアントシアニジンの純度が、吸着工程後における洗浄工程の有無及び洗浄の程度によって変化する度合いを、前記先行技術の場合よりも低くすることができるのである。

【0013】また、吸着樹脂を、吸着工程したあとにおいて、一旦、乾燥することにより、当該吸着樹脂の表面が乾いた状態になるから、その後における溶出工程に、酢酸エチル等のように、水に対して一定の割合でしか溶解することができない極性溶媒を使用しても、吸着樹脂に対して高い親和性を保持することができ、換言すると、溶出工程に、水に対して一定の割合でしか溶解することができない極性溶媒を使用することが可能になるのである。

【0014】そして、前記吸着樹脂からのプロアントシアニジンの溶出は、極性の低い極性溶媒を使用する。すなわち、極性溶媒のうち水又はメタノール等の極性の高い極性溶媒を使用することは不向きで、エタノール又はアセトン等のように極性の低い極性溶媒を使用することが適している。この場合において、極性溶媒としてエタノールを使用するときには、その濃度は40% (v/v)以上にすることが好ましい。

【0015】一方、水に対して一定の割合でしか溶解することができない極性溶媒としては、酢酸エチル又はブタノール或いはプロパノール等が適している。更に、前記溶出工程に際しての温度は、先行技術のように60℃以上の高い温度にする必要がなく、30℃以下の低い温度で行うものであって、この低い温度での溶出工程により、プロアントシアニジンの回収率を、先行技術と略同じにすることができるのであり、すなわち、溶出工程を低い温度で行うことができるから、先行技術のように、高い温度にするための温度管理を必要としないと共に、低沸点極性溶媒を使用する場合における取り扱いの困難性を招来することがないのである。

【0016】特に、この溶出工程に、前記したように、酢酸エチル等の水に対して一定の割合でしか溶解することができない極性溶媒を使用することにより、プロアントシアニジン含有溶液からのプロアントシアニジンの回収率を、前記先行技術の場合よりも大幅にアップすることができるのである。

【0017】

【発明の効果】このように、本発明によると、原料であるプロアントシアニジン含有溶液から、プロアントシアニジンを高い回収率、且つ、高い純度で回収・製造することを、溶出工程を高い温度に温度管理することなく、従って、コストのアップを招来することなく、確実に達成するできる効果を有する。

【0018】また、「請求項2」のように、洗浄工程を付加することにより、前記の効果に加えて、回収するプロアントシアニジンの純度をより向上させることができる。更にまた、「請求項3」によると、前記の効果に加えて、吸着樹脂の乾燥に際して、当該吸着樹脂に吸着されているプロアントシアニジンの変質を防止できるか

ら、吸着樹脂を乾燥することによってプロアントシアニジンの回収率が低下することを回避できる。

【0019】一方、「請求項4」によると、餡の製造工程から排出される豆類の浸漬水又は洗切り水、或いは豆類の煮汁よりプロアントシアニジンを回収することができるから、製造コストを更に低減できる効果を有する。

【0020】

【実施例】以下、本発明の実施例について述べる。

【実施例1】25リットルの水に、10Kgの乾物小豆を約16時間にわたって浸漬することによって得た15リットルの浸漬水を、原料のプロアントシアニジン含有溶液として使用した。

【0021】この15リットルの浸漬水に、三菱化成株式会社より商品名「セバピーズSP-850」として市販されているポリスチレン系の吸着樹脂を750ccだけ添加し、常温で、約2時間にわたって攪拌することによって、この吸着樹脂に浸漬水中のプロアントシアニジンを吸着する。次いで、前記吸着樹脂を、80メッシュの篩いにて水分を分別（水切り）したのち、真空蒸発式の乾燥機にて、70℃以下の温度ですばやく乾燥させることにより、乾燥した吸着樹脂を得た。

【0022】この乾燥した吸着樹脂を、別に八個用意した内容積200ccの共栓三角フラスコの各々に7.4gずつ入れる。更に、各共栓三角フラスコの各々に、「表1」及び「表2」に示した極性溶媒70ccを添加して、「表1」及び「表2」に示した温度にて、2時間*

*にわたって振とう（ふりまぜること）して溶出すると言う試験を行った。

【0023】但し、「表2」における「水-酢酸エチル」は、水に対して酢酸エチルを飽和状態にまで溶解した溶液である。一方、プロアントシアニジンを吸着した吸着樹脂を、一旦、水洗浄したのち、乾燥することなく、湿潤した状態（含水率63%）のまま、20gずつ八個の共栓三角フラスコの各々に入れ、更に、各共栓三角フラスコの各々に、「表1」及び「表2」に示した極性溶媒70cc（但し、エタノールの場合には、終濃度が各濃度になるようにエタノールを添加した）を添加して、「表1」及び「表2」に示した温度にて、2時間にわたって振とう（ふりまぜること）して溶出すると言う試験を行った。

【0024】次いで、前記した各共栓三角フラスコ内における溶出液を、真空式の蒸発器にて、60℃以下の温度で蒸発することによって、粗プロアントシアニジンの粉末を得た。そして、この各粗プロアントシアニジン粉末中におけるプロアントシアニジン低重合体の量を、前記先行技術の場合と同様に、塩酸-ブタノール法〔W. E. Hillis : J. Sci. Ed. Agric.(1959)〕により、ロイコアントシアニン量「OD₂₅₅, nm」として測定した結果は、「表1」及び「表2」に示す通りであった。

【0025】

【表1】

	極 性 溶 媒	溶出温度 25℃	溶出温度 70℃
吸着樹脂を乾燥しない場合	10%(v/v) エタノール	0.062	0.194
	20%(v/v) エタノール	0.156	0.342
	40%(v/v) エタノール	0.371	0.477
	60%(v/v) エタノール	0.352	0.518
	80%(v/v) エタノール	0.390	0.632
吸着樹脂を乾燥した場合	10%(v/v) エタノール	0.030	0.084
	20%(v/v) エタノール	0.112	0.176
	40%(v/v) エタノール	0.454	0.420
	60%(v/v) エタノール	0.584	0.654
	80%(v/v) エタノール	0.574	0.622

【0026】

【表2】

溶出温度	極性溶媒（水－酢酸エチル）	
	吸着樹脂を乾燥しない場合	吸着樹脂を乾燥した場合
25℃	0.187	0.323
50℃	0.127	0.299
70℃	0.115	0.313

【0027】前記「表1」より明らかな通り、吸着樹脂を乾燥しない場合、つまり湿潤状態の吸着樹脂の場合（先行技術）には、プロアントシアニジン低重合体の回収率を向上するには、溶出温度を高くしなければならないが、本発明のように、吸着樹脂を乾燥した場合には、溶出温度を高くしなくても、プロアントシアニジン低重合体の回収率を、先行技術の場合と略同じ値にすることができるのであった。

【0028】すなわち、極性の低い極性溶媒においては、溶出工程の移行する前において、吸着樹脂を一旦乾燥することにより、溶出温度を高くすることなく、プロアントシアニジン低重合体を高い回収率で回収することができるのであった。また、前記「表2」により明らかな通り、先行技術のように、湿潤した状態の吸着樹脂を高い温度で溶出すると言う方法では、回収率の向上は認められず、むしろ、低い温度での溶出の方が、結果的に回収率の向上には有効であった。

【0029】一方、本発明のように、吸着樹脂を一旦乾燥すると言う方法では、プロアントシアニジン低重合体の回収率は、溶出温度の高低に関係なく、略一定であり、先行技術の場合よりも大幅に向上できるのであった。しかも、ここに使用した極性溶媒が低沸点極性溶媒であることにより、高温溶出では取り扱いが困難になるから、低温溶出の方が好ましい。

【実施例2】乾物小豆5Kgを、15リットルの水で煮た煮汁7.5リットルを、プロアントシアニジン含有溶液として試験に供した。この煮汁には、プロアントシアニジンの他に、タンパク質及び澱粉等の不純物を多く含むものである。

【0030】前記煮汁に、三菱化成株式会社より商品名「セバピーズSP-850」として市販されているポリスチレン系の吸着樹脂を375ccだけ添加し、常温で、約2時間にわたって攪拌することによって、この吸着樹脂に煮汁中のプロアントシアニジンを吸着する。次いで、前記吸着樹脂を、25℃の水1.5リットルで洗

浄したのち、水切りして、真空蒸発式の乾燥機にて、70℃以下の温度ですばやく乾燥させることにより、乾燥した吸着樹脂を得た。

【0031】この乾燥した状態の吸着樹脂を、別に六個用意した内容積200ccの共栓三角フラスコの各々に7.4gずつ入れる。更に、各共栓三角フラスコの各々に、「表3」に示した極性溶媒70ccを添加して、「表3」に示した温度にて、2時間にわたって振とう（ふりまぜること）して溶出すると言う試験を行った。一方、プロアントシアニジンを吸着した吸着樹脂を、一旦、水洗浄したのち、乾燥することなく、湿潤した状態（含水率63%）のままで、20gずつ三個の共栓三角フラスコの各々に入れ、更に、各共栓三角フラスコの各々に、「表3」に示した極性溶媒70cc（但し、エタノールの場合には、終濃度が各濃度になるようにエタノールを添加した）を添加して、「表3」に示した温度にて、2時間にわたって振とう（ふりまぜること）して溶出すると言う試験を行った。

【0032】次いで、前記した各共栓三角フラスコ内における溶出液を、真空式の蒸発器にて、60℃以下の温度で蒸発することによって、粗プロアントシアニジンの粉末を得た。そして、この各粗プロアントシアニジン粉末中におけるプロアントシアニジン低重合体の量Aと、タンパク質の量Bとを測定すると共に、プロアントシアニジン低重合体に対するタンパク質の割合、つまり、精製度A/Bを算出した結果を「表3」に示す。

【0033】なお、プロアントシアニジン低重合体の量Aは、前記塩酸－ブタノール法によりロイコアントシアニン量「OD_{550nm}」として測定し、また、タンパク質の量Bは、Lowry-Folin法（Lowry, O. H. 等: J. Biol. Chem. (1951)）により牛血清アルブミン量「OD_{550nm}」として測定した。

【0034】

【表3】

	溶出 温度	極 性 溶 媒	プロアントシアニジン 低重合体量 A	タンパク質 量 B	精製度 A/B
湿潤 樹脂	70 ℃	10%エタノール	0. 2 1 3	0.064	3.33
		80%エタノール	0. 6 9 5	0.638	1.09
		水-酢酸エチル	0. 1 2 7	0.022	5.77
乾燥 樹脂	25 ℃	10%エタノール	0. 0 3 3	0.006	5.50
		80%エタノール	0. 6 3 1	0.070	9.01
		水-酢酸エチル	0. 3 5 5	0.032	11.09
	70 ℃	10%エタノール	0. 0 9 2	0.012	7.67
		80%エタノール	0. 6 8 4	0.443	1.54
		水-酢酸エチル	0. 3 4 1	0.042	8.19

【0035】この第3実施例に使用した小豆の煮汁は、プロアントシアニジンの他に不純物を多く含むことにより、この煮汁よりプロアントシアニジンを選択的に回収するには、先づ、主な不純物である澱粉等の糖質の除去と、タンパク質の除去とが大きな要因となる。このうち糖質は、水以外の溶媒には溶け難いために、容易に除去することができるが、タンパク質の場合は、親水性のものから疎水性のものまであらゆる性質のものが存在するから、容易に除去することができない。

【0036】そこで、プロアントシアニジンを選択的に回収できる方法について検討するために、プロアントシアニジンの精製度を、プロアントシアニジン低重合体の量Aを、タンパク質の量Bで割り算した値と比較した。その結果は、「表3」に示す通りで、湿潤樹脂を高温で溶出すると言う先行技術の方法では、プロアントシアニジンの精製度で見ると、乾燥樹脂から溶出すると言う方法に比較して、大幅に劣っていることが判る。

【0037】一方、乾燥樹脂から溶出する場合、極性の低い極性溶媒を使用することにより、プロアントシアニジンの精製度を向上できることが判った。すなわち、タンパク質等の不純物を含むプロアントシアニジン含有溶液からプロアントシアニジンを選択的に回収するには、吸着樹脂を、溶出の前において一旦乾燥したのち、低い温度で、極性の低い極性溶媒にて溶出することにより、プロアントシアニジンを選択的に回収することができ、高い回収率及び高い純度で回収するこ

とができるのである。

【実施例3】乾燥さきび3Kgに対して、水6リットルを添加して加熱し、洗切りを行ったときの洗切り水3リットルを試験に供した。

【0038】前記洗切り水3リットルに対し、三菱化成株式会社より商品名「セバビーズSP-850」として市販されているポリスチレン系の吸着樹脂を150ccだけ添加し、常温で、約2時間にわたって攪拌することによって、この吸着樹脂にプロアントシアニジンを吸着する。次いで、前記吸着樹脂を1リットルの水で洗浄することによって、大体の不純物を除去したのち、真空蒸発式の乾燥機にて、70℃以下の温度ですばやく乾燥する。

【0039】そして、この乾燥した吸着樹脂を、エーテル300ccの中で膨潤させたのち、内径2.1cm、長さ45cmのガラスカラム内に充填し、この状態で、前記ガラスカラム内に、300ccのエーテルを、4.5分で全量が通過するような速度で流すことにより、カテキン類、色素等低分子のフェノール性物質及び疎水性の不純物を除去する。

【0040】次いで、前記ガラスカラム内に、3リットルの水-酢酸エチルを、前記と同じ速度で流すことにより、プロアントシアニジンを選択的に溶出したのち、真空式の蒸発器にて、60℃以下の温度で蒸発することによって、3.79gの粗プロアントシアニジン粉末を得た。